



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁵ : C12N 15/86, 9/12, A61K 48/00, C12N 5/10	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 94/13824 (43) Date de publication internationale: 23 juin 1994 (23.06.94)
--	----	--

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR93/01259

(22) Date de dépôt international: 16 décembre 1993 (16.12.93)

(30) Données relatives à la priorité:
92/15195 16 décembre 1992 (16.12.92) FR(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): UNIVERSITE
PIERRE ET MARIE CURIE (PARIS VI) [FR/FR]; 4, place
Jussieu, F-75252 Paris Cédex 05 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): KLATZMANN, David
[FR/FR]; 11, rue du Tage, F-75013 Paris (FR). CARUSO,
Manuel [FR/FR]; 9, rue des Cottages, F-75018 Paris (FR).(74) Mandataires: GUTMANN, Ernest - Yves Plasseraud S.A. etc.;
3, rue Chauveau-Lagarde, F-75008 Paris (FR).(81) Etats désignés: CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH,
DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Publiée

Avec rapport de recherche internationale.

(54) Title: RETROVIRAL VECTORS FOR THE TREATMENT OF TUMORS, AND CELL LINES CONTAINING THEM

(54) Titre: VECTEURS RETROVIRAUX POUR LE TRAITEMENT DES TUMEURS, ET LIGNEES CELLULAIRES LES CON-
TENANT

(57) Abstract

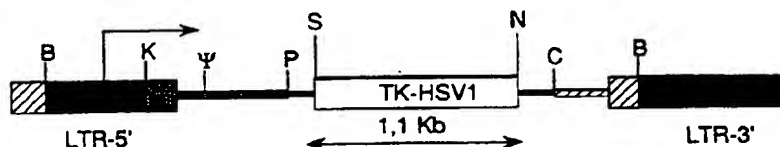
The invention relates to recombinant retroviral vectors, derived from Moloney MuLV, carrying a suicide gene susceptible of transforming an inactive substance into a toxic substance for cells going through a division process, said vectors being characterized by the presence in their structure of LTR sequences from variants of MuLV, and having the properties: (a) of not being inactivated during passage through the carcino-embryonic or line germinal cells of mice; (b) the expression of the suicide gene kills only the cells in the course of division.

(57) Abrégé

L'invention concerne des vecteurs rétroviraux recombinants, dérivés des Moloney MuLV, porteurs d'un gène suicide susceptible de transformer une substance inactive en substance toxique pour des cellules en division, et caractérisés par la présence dans leur structure de séquences LTR issues de variants du MuLV, ayant les propriétés: de ne pas être inactivés lors d'un passage dans des cellules carcino-embryonnaires ou lignées germinales de souris; dont l'expression du gène suicide ne tue que les cellules en division.

RETROVIRAL VECTOR pMTK

Vecteur rétroviral pMTK



Mov3
 Mov13
 Mov9
 Polylinker

B : BamHI
 K : KpnI
 P : PstI
 C : ClaI
 S : Sall
 N : NotI

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brézil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroon	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CN	Chine	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LV	Lettonie	TG	Togo
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
FR	France			VN	Viet Nam
GA	Gabon				

VECTEURS RETROVIRAUX POUR LE TRAITEMENT DES TUMEURS, ET LIGNEES
CELLULAIRES LES CONTENANT

La thérapie génique offre de nouvelles possibilités pour le traitement des tumeurs.

Parmi les différentes options, le transfert de gène peut avoir pour but de tuer les cellules tumorales soit indirectement par l'induction ou le renforcement d'une réponse immunitaire de l'hôte (S.A. Rosenberg, Cancer Res. 51:5074 (1991)) ou directement par l'insertion d'un "gène suicide" (F.L. Moolten, Cancer Res. 46:52-76 (1986)). Le gène suicide le plus étudié est celui codant pour la thymidine kinase du virus Herpès Simplex de type 1 (TK-HSV1) (G.B. Elion et al., J. Antimicrob. Chemother. 12:9-17 (1983)). Cette enzyme permet la phosphorylation d'analogues nucléosidiques tels que le ganciclovir (GCV). Ces molécules monophosphatées sont ensuite transformées en formes triphosphatées par les enzymes cellulaires. Le GCV triphosphatée (GCV-TP) peut alors être incorporé dans l'ADN durant la division cellulaire, bloquant la l'élongation et entraînant ainsi la mort de la cellule. Le GCV-TP n'est donc toxique que pour les cellules en division.

Cette approche est particulièrement intéressante pour le traitement des tumeurs qui sont constituées de cellules en division rapide dans un tissu constitué de cellules non prolifératives, et l'expression de TK-HSV1 par les cellules d'une tumeur située au sein d'un organe dont les cellules ne se divisent pas devrait permettre la destruction spécifique de ces cellules. De plus, il est possible de cibler le transfert de gène sur ces cellules tumorales en utilisant pour la transduction de TK-HSV1 des rétrovirus recombinant dont

le génome ne peut s'intégrer et s'exprimer que dans des cellules en division.

Le premier modèle expérimental d'ablation par le GCV de cellules tumorales exprimant TK-HSV1 a été réalisé par Moolten (F. L. MOOLTEN, Cancer Res, 46, 1986, p. 5276-5281) ; (F. L. MOOLTEN et J. M. WELLS, J. Natl. Cancer Inst., 82, 1990, p. 297-300). Il a montré un effet antitumoral du GCV sur la croissance de cellules tumorales de souris, après transfection du gène TK-HSV1 in vitro, et réimplantation chez l'animal. Récemment, l'élimination de tumeurs cérébrales expérimentales microscopiques par injection stéréotaxique de cellules produisant des rétrovirus TK-HSV1 et traitement par le GCV a été rapportée par Culver (K.W. Culver et coll., Science 256:1550-1552 (1992)).

Cependant, dans ce modèle les auteurs ne peuvent pas analyser l'effet d'un tel traitement sur des tumeurs établies macroscopiques qui sont rapidement létales. Or, chez les patients les tumeurs solides sont la cible principale de ce type de traitement et le problème de la transduction des gènes suicides dans le contexte d'une masse tumorale est beaucoup plus problématique.

Chez l'homme, les métastases hépatiques sont une complication fréquente des cancers digestifs. L'hépatectomie partielle n'est possible que dans environ 15% des cas, et les autres traitements comme la chimiothérapie loco-régionale ou l'immunothérapie n'ont donné jusqu'à présent que des résultats modestes, voire décevants. Par le présent travail, il est montré l'efficacité du traitement de métastases hépatiques expérimentales chez le rat après transfert in vivo du gène TK-HSV1 par injection directe de fibroblastes murins produisant des particules rétrovirales recombinantes.

Dans ce cadre, un des buts de la présente invention est la mise au point d'un système cellules de packaging-vecteur rétroviral recombinant utilisable en thérapeutique pour soigner les tumeurs établies, notamment les tumeurs hépatiques, et dans lequel le produit d'expression du gène recombiné est capable de transformer une prodrogue non toxique en drogue toxique pour les cellules exprimant ledit gène recombinant.

Plus précisément la présente invention a pour but de construire un vecteur rétroviral recombinant susceptible, après transformation d'une lignée fibroblastique de packaging, de produire des pseudo-particules rétrovirales qui, après infection de cellules en division, aboutit à une expression du gène transduit, sans pour autant conduire à une inactivation desdits vecteurs comme cela se produit et a été décrit notamment avec le MuLV-moloney.

Les lignées transgéniques murines de la serine Mov ont été établies par Jaenisch et coll. par infection d'embryons de souris par le virus de Moloney-MuLV avant implantation (Jaenisch et al., Cell 24:519-529 (1981)).

A ce stade de développement, les animaux sont normalement résistants à l'infection par le MuLV, l'hypothèse étant que l'ADN proviral subirait un processus de méthylation acquis au cours des divisions cellulaires successives et cette méthylation empêcherait la transcription de l'ADN.

Cependant, avec certaines lignées Mov, le génome MuLV peut être réactivé à un stade particulier du développement et les rongeurs développent des leucémies induites par ce virus oncogène. Ceci est le cas pour les trois lignées suivantes : Mov3, Mov9 et Mov 13.

Ce phénotype serait dû à des mutations dans le LTR.

La présente invention a donc pour but la construction d'un vecteur rétroviral recombinant dérivé

du MuLV-moloney porteur d'un gène suicide susceptible de transformer une substance inactive en substance toxique pour des cellules en division, et caractérisé dans sa structure par la présence de séquences LTR issues de tels variants du MuLV ayant la propriété de ne pas être inactivés lors d'un passage dans des cellules carcinoembryonnaires ou lignées germinales de souris et d'être capables de transfecter des cellules qui se divisent et notamment des cellules tumorales.

Le gène suicide utilisé est celui de la thymidine kinase du virus Herpès Simplex.

L'invention concerne également des lignées de packaging transfectées par ce vecteur recombinant dérivé du rétrovirus de Moloney et comprenant le gène TK-HSV1.

L'invention concerne plus particulièrement la lignée M11 déposée à la C.N.C.M. le 15 décembre 1992 sous le n° I-1278.

L'administration in situ dans une tumeur hépatique de ces lignées transfectées, porteuses de gène TK-HSV1 suivi par un traitement par un analogue de nucléotides tel le ganciclovir conduit à une réduction de la masse tumorale supérieure à 90% dans les conditions expérimentales décrites ci-dessous (cf. figure 2).

L'invention concerne enfin des compositions thérapeutiques contenant les lignées cellulaires transfectées par des rétrovirus recombinants, utilisable en association avec une prodrogue pour conduire à une destruction sélective des cellules tumorales.

L'invention met à profit trois phénomènes distincts :

- 1) l'injection de la composition dans des cellules en divisions, elle-même environnées de cellules quiescentes ;

2) la présence dans cette composition de vecteurs rétroviraux recombinants qui n'infectent que les cellules en division, et par voie de conséquence, le gène ne s'exprime que dans ces cellules ;

3) l'expression du gène suicide ne tue que les cellules en division.

Autrement dit, toutes les cellules en division infectées par les rétrovirus recombinants, et exprimant le gène TK-HSV1 sont susceptibles d'être tuées après traitement par l'analogue nucléosidique, qui peut être ainsi transformé en nucléotide triphosphate et stopper l'élongation de l'ADN après son intégration dans la chaîne d'ADN en croissance.

Les cellules susceptibles dans ce phénomène sont donc

- les cellules tumorales cibles
- les fibroblastes transfectés, de la composition de l'invention.

Les conditions expérimentales ci-après ont pour but d'illustrer la construction du vecteur rétroviral permettant la sélectivité de l'effet "tueur" décrit ci-dessus, la préparation des lignées transfectées par un tel vecteur, et l'efficacité thérapeutique de la composition contenant ces lignées, lorsque le traitement est associé à l'administration d'une prodrogue tel que le Ganciclovir.

1) Construction du vecteur rétroviral pMTK

On décrit la construction d'un vecteur dans lequel le gène HSV1-TK a été placé sous le contrôle d'un 5'LTR des souches MuLV mutantes Mov3, Mov13 et Mov9.

L'utilisation de ce plasmide pour la transfection des cellules fibroblastiques CRIP est décrite ensuite.

Les ligatures des différents fragments de restriction des souches Mov3, Mov13 et Mov9 sont réalisées de la façon suivante :

- LTR-5' - Mov3 jusqu'au site BamHI (-350 du départ de transcription).
 - Mov13 du site BamHI (-350) jusqu'au site KpnI (+30).
 - Mov9 du site KpnI (+30) jusqu'au site PstI (+560) (contient la séquence de packaging Ψ).
 - La séquence non codante en 3' du site ClaI (+7674) jusqu'à U3 (+7817) provient de Mov3.
- LTR-3' - Mov3 jusqu'au site BamHI positionné en 7910 (ou -350).
 - Mov13 jusqu'à la fin de U5.

Le fragment contenant le gène HSV1-TK, de 1100 paires de bases, et délimité par les extrémités SalI et NotI a été inséré dans le polylinker aux sites indiqués dans la figure 1.

Toutes ces opérations de clonage ont été effectuées en utilisant des techniques classiques (Maniatis et al. (1982), Molecular Cloning, a laboratory manual).

La figure 1 représente le vecteur rétroviral recombinant.

2) Cultures cellulaires et transfection, établissement de la lignée packaging M11 :

Les cellules fibroblastiques Ψ CRIP (O. DANOS, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1988), 85 : 6460-64) ont été cotransfectées avec le vecteur rétroviral pMTK (20 μ g) et exprimant TK-HSV1 sous le contrôle du LTR et un plasmide de sélection (1 μ g) (pWLNeo, Stratagène). Plusieurs clones ont été isolés en sélection G418. La production de particules virales de ces clones a ensuite été testée par infection de cellules L TK- et sélection de cellules en HAT. L'infection se réalise avec des dilutions successives du surnageant contenant les particules virales, et le comptage du nombre de colonies obtenues dans ces conditions permet de

déterminer un titre infectieux. Le clone M11 sélectionné possède un titre de 5.10^5 particules virales/ml. La lignée NB16 (N. FERRY et al Proc. Natl. Acad. Sci. (1991) 88 : 8377-81), également dérivée de cellules Y CRIP, a été utilisée pour évaluer l'infection des cellules tumorales. Elle produit des particules virales exprimant le gène nls-LacZ avec un titre infectieux de 104 particules virales/ml.

La lignée DHDK12 est une lignée cellulaire établie de cancer colique chimio-induit chez le rat BDIX, décrite dans Martin et al., Virchows Archiv. A Pathol. Anat. (1991) 418:193.

L'invention concerne également les populations de cellules fibroblastiques transformées par un vecteur rétroviral recombinant porteur du gène suicide.

3) Protocole thérapeutique

Des rats BDIX mâles syngéniques ont été utilisés. Une tumeur de foie isolée a été induite par une injection directe des cellules DHDK12 sous la capsule du foie. Au jour 5 les tumeurs du foie ont un diamètre compris entre 2 et 3 mm et contiennent approximativement 150 millions de cellules.

A ce moment, les rats reçoivent une injection intra-tumorales des fibroblastes producteurs des rétrovirus recombinants (20.10^6 cellules).

Les animaux du groupe contrôle ont reçu des cellules NB16 des fibroblastes qui produisent un rétrovirus recombinant exprimant le nls-lacZ gène. Ce gène code pour une β -galactosidase avec un signal de localisation dans le noyau et peut ainsi servir comme un gène indicateur de suivi de l'infection des cellules tumorales in vivo. Le clone NB16 produit le virus avec un titre de 10^4 unités formant plaques par millilitre. Le groupe d'animaux traités ont été infectés par la

ligne M11 qui produit 5.10^5 particules infectieuses par millilitre.

Après l'injection intra-tumorale des cellules packaging, une période de 5 jours est laissée pour que l'infection des cellules tumorales par le rétrovirus recombinant puisse se produire.

Cinq jours plus tard, soit le dixième jour, tous les rats reçoivent du Ganciclovir (GCV) (Syntex), pendant cinq jours à la dose de 150 mg/kg deux fois par jour par voie intrapéritonéale et ce pendant 5 jours. Les rats étaient ensuite sacrifiés à la fin du traitement au Ganciclovir, soit 15 jours après la première injection et une autopsie a été réalisée comprenant une mesure de la taille des tumeurs et une étude anatomopathologique.

La figure 2 résume le protocole expérimental décrit ci-dessus et les résultats obtenus sur la réduction des tumeurs, décrits ci-dessous.

RESULTATS

- Groupe contrôle (nombre de rats : 12) :

Lors de l'autopsie, tous les lobes injectés présentaient des tumeurs macroscopiques, dont le diamètre moyen le plus large était de 6.5 ± 2.1 mm (extrêmes: 3 et 10 mm). Leur volume est calculé d'après la formule $V = A \times B^2/2$, dans laquelle A est le diamètre le plus large, et B le diamètre le plus petit mesuré au niveau de la section la plus large de la tumeur (G. Carlsson et al., 1983, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 105:20). Le volume calculé dans ces conditions était de 86.3 ± 65.1 mm³ (moyenne \pm D.S.).

L'examen pathologique des tumeurs révélait un aspect typique d'adénocarcinome faiblement différencié, consistant essentiellement en des cellules tumorales organisées en lobules d'épaisseurs variables. Le stroma apparaît fibrotique et entouré d'cellules

inflammatoires mononucléaires. Le pourcentage de cellules tumorales dans la tumeur peut être estimé à 60%.

L'activité β -galactosidase nucléaire est détectée dans des coupes cryostatiques colorées Xdale chez les 6 foies témoins analysés. La fraction des cellules tumorales infectées était inférieure à 1%.

- Groupe traité (nombre de rats : 13) :

Le diamètre moyen des tumeurs était de 3 plus ou moins 1.1 millimètre (extrêmes : 0.5 et 4 mm) et le volume était de 8.1 plus ou moins 6.7 mm³ ($P < 0.0001$, Mann and Withney Test) (Fig. 2). L'examen pathologique des tumeurs révèle l'efficacité de ce traitement par une diminution très importante de la taille des tumeurs. Sur les 11 foies analysés (2 étaient utilisées pour le contrôle analytique lacZ), deux avaient des tumeurs montrant une réduction de 60 à 20% des cellules tumorales. Ces cellules étaient faiblement organisées et nécrotiques. Elles étaient regroupées dans une réaction fibrotique entourant des cellules mononucléaires inflammatoires et une hyperplasie cancéreuse. Dans 5 autres foies, moins de 10% de cellules cancéreuses ont pu être détectées, avec une réaction fibrotique massive. Dans les quatre derniers foies, quelques rares cellules cancéreuses ont été vues et une nécrose massive de la tumeur entourée par une réaction fibrotique a été observée.

Chez tous ces rats, il y avait des signes d'une régénération parenchymateuse.

Ces études montrent une régression de tumeurs établies après transfert in vivo d'un gène suicide.

Chez des patients un ciblage précis de l'injection des fibroblastes packaging transformés dans la masse tumorale peut être facilitée par un assistance ultra

sonographique ou par l'aide de toute microsonde dont la fonction est la localisation desdites masses tumorales.

Sachant que le taux de cellules infectées exprimant le gène TK-HSV1 était inférieur à 10% et que la tumeur est réduite de plus de 90% après addition de Ganciclovir, on peut supposer que le phénomène de "coopération métabolique", déjà décrit par Moolten (Moolten, 1986) ou "effet de proximité" (Culver, 1992) est également effectif dans le cas d'une masse tumorale importante. Ce phénomène pourrait s'expliquer par le transfert du ganciclovir phosphorylé des cellules exprimant le gène TK-HSV1 aux cellules ne l'exprimant pas.

L'utilisation des cellules fibroblastiques packaging, transformées par un vecteur rétroviral recombinant portant un gène suicide comme médicament associé à un traitement par le ganciclovir, paraît être efficace pour la réduction de masse tumorales et le traitement des cancers établis.

L'invention ne saurait être limitée au mode de réalisation qui a été illustré ci-dessus, en particulier la mise en oeuvre le couple TK-HSV et le Ganciclovir. L'homme du métier est à même d'imaginer d'autres couples actifs qui peuvent être mis en oeuvre à ces mêmes fins. On pourra citer par exemple comme gène tueur le gène de la thymidine kinase du cytomégalo virus couplé au Ganciclovir. La séquence génétique et la structure de la protéine de cette thymidine kinase montrent que celle-ci est relativement différente des kinases cellulaires ou de la kinase du virus Herpès Simplex 1. On peut citer également une enzyme bactérienne, la cytosine désaminase qui est capable de convertir la 5 fluorocytidine en un analogue de nucléotide toxique : le 5 fluoro-Uracyl. On peut enfin imaginer tout autre système de toxicité

conditionnelle fondée sur un couple enzym -médicament et qui permette par le système décrit ci-dessus de tuer spécifiquement les cellules en division.

REVENDICATIONS

1. Vecteurs rétroviraux recombinants, dérivés des Moloney MuLV, porteurs d'un gène suicide susceptible de transformer une substance inactive en substance toxique pour des cellules en division, et caractérisés par la présence dans leur structure de séquences LTR issues de variants du MuLV, ayant les propriétés :

- de ne pas être inactivés lors d'un passage dans des cellules carcino-embryonnaires ou lignées germinales de souris,

- dont l'expression du gène suicide ne tue que les cellules en division.

2. Vecteurs rétroviraux recombinants selon la revendication 1, caractérisés en ce que les séquences LTR sont issues des variants Mov3, et/ou Mov9 et/ou Mov13.

3. Vecteurs rétroviraux recombinants selon les revendications 1 et 2, présentant la structure de la figure 1 et dans lesquels le gène suicide est celui de la thymidine kinase du virus herpès simplex.

4. Lignées cellulaires fibroblastiques de packaging caractérisées en ce qu'elles sont transformées par un vecteur rétroviral recombinant selon l'une des revendications 1 à 3 et productrices desdits virus recombinants.

5. Lignée cellulaire fibroblastique selon la revendication 4, caractérisée en ce qu'elle est transformée en un vecteur recombinant selon la revendication 3, et déposée à la C.N.C.M. le 15 décembre 1992 sous le n° I-1278.

6. Composition thérapeutique caractérisée en ce qu'elle contient une lignée cellulaire selon les revendications 4 ou 5, ou un vecteur rétroviral recombinant selon l'une des revendications 1 à 3,

active en association avec une prodrogue, pour le traitement de tumeurs solides.

7. Composition thérapeutique selon la revendication 7, caractérisée en ce que le gène suicide intégré dans le vecteur recombinant est celui de la thymidine kinase du virus herpès simplex, et la prodrogue est un analogue de nucléotide tel le ganciclovir ou l'aciclovir.

Vecteur rétroviral pMTK

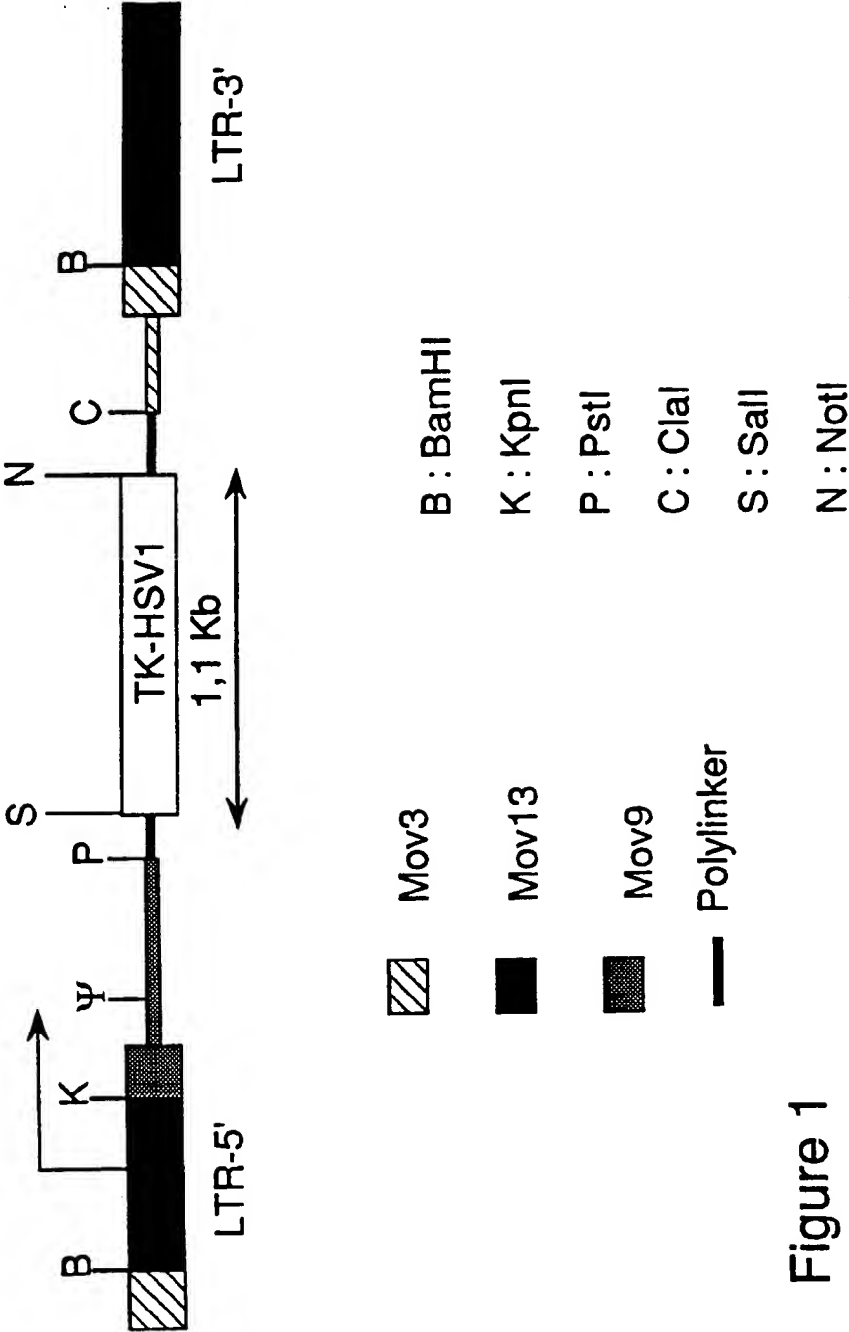


Figure 1

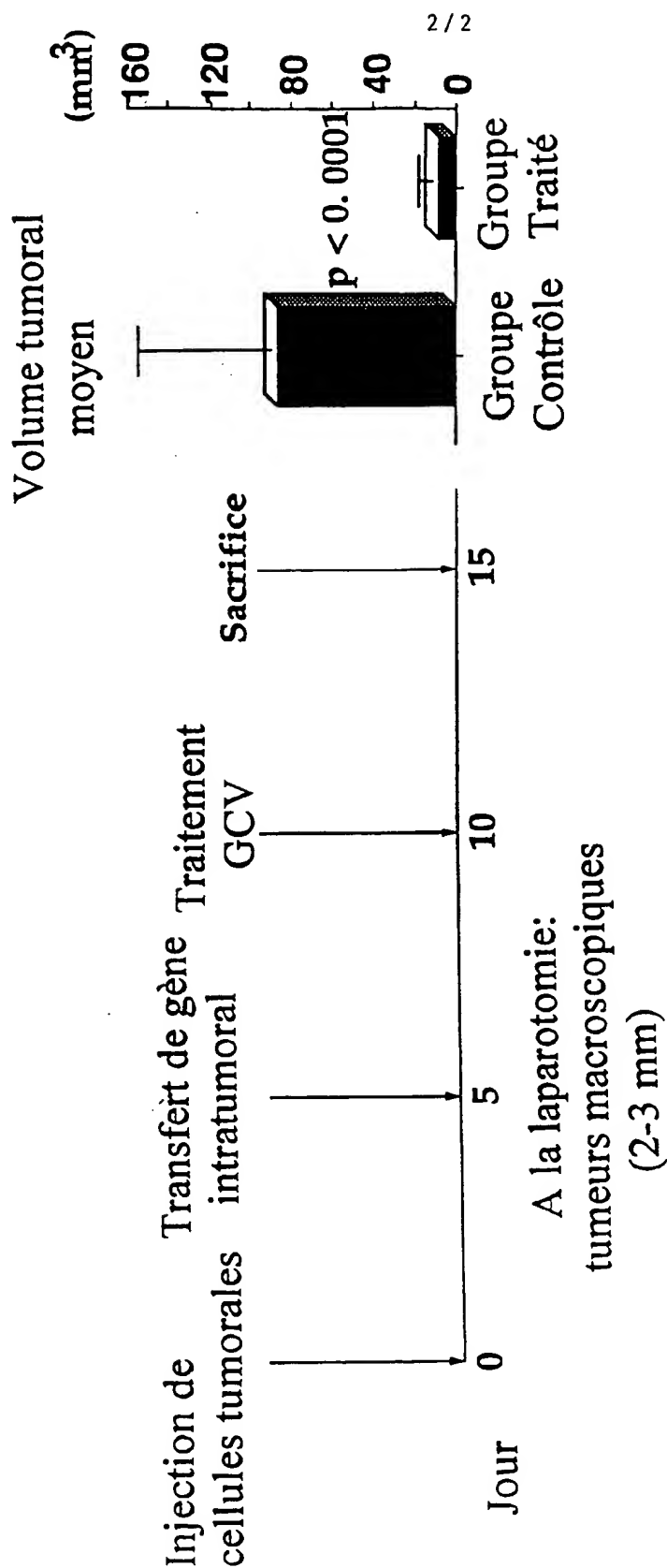


Figure 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No
PCT/FR 93/01259A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 C12N15/86 C12N9/12 A61K48/00 C12N5/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 5 C12N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SCIENCE vol. 256, no. 5063, 12 June 1992, LANCASTER, PA US pages 1550 - 1551 CULVER, K. W. ET AL. 'In vivo gene transfer with retroviral vector-producer cells for treatment of experimental brain tumors' cited in the application see the whole document --- -/--	1,3-7

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☐ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 March 1994

Date of mailing of the international search report

07-04-1994

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Chambonnet, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Appl. Application No.

PCT/FR 93/01259

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	<p>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA. vol. 90, no. 15 , August 1993 , WASHINGTON US pages 7024 - 7028 CARUSO, M. ET AL. 'Regression of established macroscopic liver metastases after in situ transduction of a suicide gene' see the whole document -----</p>	1-7

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

 Dem. internationale No
 PCT/FR 93/01259

 A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
 CIB 5 C12N15/86 C12N9/12 A61K48/00 C12N5/10

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

 Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
 CIB 5 C12N A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	SCIENCE vol. 256, no. 5063, 12 Juin 1992, LANCASTER, PA US pages 1550 - 1551 CULVER, K. W. ET AL. 'In vivo gene transfer with retroviral vector-producer cells for treatment of experimental brain tumors' cité dans la demande voir le document en entier --- -/--	1,3-7

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☐ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

4 Mars 1994

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

07-04-1994

 Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
 Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Chambonnet, F

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
P,X	<p>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA. vol. 90, no. 15 , Août 1993 , WASHINGTON US pages 7024 - 7028 CARUSO, M. ET AL. 'Regression of established macroscopic liver metastases after in situ transduction of a suicide gene' voir le document en entier -----</p>	1-7

Legal Nam	Legal Addr	Legal Addr	Legal City	Legal Stat	Legal Zip	Contact Fir	Contact La	Date of Ag
A+ Seeds	106 Hill Str.	Box 818	Elkader	IA	52043	Dale	Fagner II	11-21-97
Adler Seed	6085W	550N	Sharpsville	IN	46068	John	Adler	11-25-97
AG+ Seed	411 11th S.	Box 878	Spencer	IA	51301	Mike	Knight	11-24-97
AgSource	1717 E 8th Street		Boone	IA	50036	Ken	Rose	11-23-97
AgVenture	207 N 7th	PO Box 29	Kentland	IN	47951-002	Curt	McKinley	11-25-97
Agway Inc.	333 Butternut Drive		DeWitt	NY	13214	Mike	Spyker	12-02-97
Ahrenholtz	3431 Highway 141		Manilla	IA	51454	Howard	Ahrenholtz	10-26-97
Albert Lea	1414 West	PO Box 12	Albert Lea	MN	56007	Mac	Ehrhardt	4-8-99
American	RR #3, Porters Sidelin		Spring Gro	PA	17362	Michael	Rishel	3-22-99
Anderson	Route #3, Box 94		St. Peter	MN	56082	Neal	Anderson	11-25-97
Arrow See	412 East 5th		Bowen	IL	62316	John	Johnson	02-02-97
Asgrow	4140 114th Street		Urbandale	IA	50322	John	Schillinger	not dated
B. F. Walto	6655 State	PO Box 44	Upper San	OH	43351-044	Clarence	Walton	11-28-97
Bahr's Hyb	212 W. Lyons Street		Rio	WI	53960	Russell	Sunde	11-29-97
Beck's Su	6767 E 276 St.		Atlanta	IN	46031	L. Sonny	Beck	12-01-97
Bio Gene	5491 Tri County High		Sardinia	OH	45171	Buddy	Layman	11-17-97
Blue Ribbo	W20899 Meunier Roa		Galesville	WI	54630	Gary	Meunier	01-24-98
Brodbeck	4060 W 50N		Wabash	IN	46992	Stan	Leland	11-21-97
Brown See	720 Croix	PO Box 18	Prescott	WI	54021	Charles	Brown	11-28-97
Brunner S	W3850 US Highway 1		Durand	WI	54736	Tony	Weisenbec	11-27-97 (
Burris See	5378 N US 24 E		Huntington	IN	46750	Spencer	Burris	11-21-97
Burrus Bro	826 Arenzville Road		Arenzville	IL	62611	Tom	Burrus	11-28-97
Campbell	1375 N 800 W		Tipton	IN	46072	Harrison	Fearnow	11-26-97
Cargill Inc	15407 McGinty Road		Wayzata	MN	55391	Rod	Greder	12-10-96
Carhart's B	N14743 County Road		Galesville	WI	54630-832	Tom	Carhart	11-24-97
Champaig	1676 County Road 22		St. Joseph	IL	61873	John	Widick	4-8-99
Champaig	304 Bloomfield Avenu		Urbana	OH	43078	John	Dunbar	11-24-97
Channel Bi	310 N. 7th	PO Box 27	Kentland	IN	47951	Aline	Funk	11-25-97
Chemgro	1550 State	PO Box 21	East Peter	PA	17520	Woody	Funk	11-28-97
Circle See	2827 Eighth Avenue		Ft. Dodge	IA	50501	Dave	Stamp	08-18-98
Clark Seed	1467 Hick	PO Box 21	Kenton	DE	19955	Jim	Clark	11-19-97
Colbert Fa	R #2, Box 311		Washingto	IN	47501	Jim	Gillooly	11-25-97
Coomer S	24828 Slusher Road		Woodburn	IN	46797	Jim	Coomer	11-25-97
Corn Belt I	1118 Neil	PO Box 95	St. Marys	OH	45885	Paul	Brautigam	11-28-97
Corn Gene	3253 N. US 231		Renssela	IN	47978	Brian	Papak	not dated
Cornelius	31578 150th Street		Bellevue	IA	52031	Chuck	Cornelius	11-26-97
Dahlco Se	14730 15th Street SW		Cokato	MN	55321	Kevin	Dahlman	11-28-97
Dahlman S	73504 200 Street		Dassel	MN	55325	Daryl	Dahlman	11-01-97
Dairyland	3570 Highway H		Kewaskum	WI	53040	Thomas	Strachota	12-16-98
Davis See	20847 Highway J5T		Moravia	IA	52571	Richard	Davis	11-26-97
Den Beste	West Highway 44		Platte	SD	57369	Lowell	Den Beste	04-12-97
Denzler Se	2643 W 700 N		Milton	IN	47357	Mark	Denzler	11-26-97
Diener Se	371 N Diener Road		Reynolds	IN	47980	Mike	Diener	not dated
Dittmer Fa	1490 N. Co. Rd. 1700		Carthage	IL	62321	Walt	Swearinge	03-30-97
Doebler's	RR 1, Box 424		Jersey Sh	PA	17740	Bill	Camerer	11-28-97
Domestic	306 S. Washington Av		Madison	SD	57042-046	Lavern	Erikson	11-26-97
Ebberts Fi	6840 N. St. Rt. 48		Covington	OH	45318	John	Suber	11-25-97
Enestvedt	RR 1, Box 36		Sacred He	MN	56285	Bert	Enestvedt	10-27-97

Epley Bros	22494 Yal	PO Box 31	Shell Rock IA	50670	Paul	Epley	11-28-97
Excell Hyb	1303 W 17 Road		Aurora NE	68818	Ron	Kalkwarf	11-25-97
Farmers B	1876 15th Avenue		Alexis IL	61412	Jim	McClellan	11-31-97
Fontanelle	10981 8th Street		Fontanelle NE	68044	Dave	Monke	11-26-97
Four Star	1013 Doro	PO Box 88	Parkersbur IA	50665	Leo	Kenealy	11-26-97
Four Star	25772 456th Avenue		Humbolt SD	57035	Howard	Stofferahn	
Fred Gutw	RR 1, Box	15691 We	Francesvill IN	47946	Barry	Johnson	11-28-97
Freedom SUS	Rte 24	PO Box 71	Astoria IL	61501	John	Sledge	11-24-97
French's H	6484 St Rt 303		Wakeman OH	44889	Larry	French	01-04-99
Frontiersm	301 E. Gra	P.O. Box 3	Kentland IN	47951	Dick	Funk	10-28-97
Garst See	2369 330th Street		Bo Slater IA	50244	Alan	Hawkins	03-11-98
Gateway S	5517 Van Buren Road		Nashville IL	62263	Ray	Varner	08-10-98
Genesis A.	1588 Sout	PO Box 21	Lansing MI	48909	Bill	Byrum	05-26-98
Glick Seed	16801 E 100 N		Hartsville IN	47244	Roger	Glick	11-25-97
Gold Coun	16506 Hig	PO Box 60	Hutchinso MN	55350	Bob	Jackson	10-28-97
Golden Ha	220 North Eldorado R		Bloomingt IL	61704-354	Jim	Shearl	09-16-96
Grabow S	6830 Lisa Lane		Dunwoody GA	30338	Darrel	Grabow	4-14-99
Grand Vall	840 - 23 Road		Grand Jun CO	81505	Robbyn	Ferris	11-28-97
Gray's See	6988 W 400 N		Fairland IN	46126	Zarrell	Gray	11-19-97
Great Lake	9915 W. M-21		Ovid MI	48866	Michael	Stephenso	12-03-97
Great Plai	1200 Kelland Drive		Norfolk NE	68701	Daniel	Broz	11-24-97
Gries See	2348 N. Fifth Street		Fremont OH	43420	Edward	Thurn	10-30-97
Growmark,	1701 Towanda		Bloomingt IL	61702	Jim	Happel	08-18-98
GTS Inc.	2009 Colberg Lane		Munger MI	48747	Robert	Groulx	4-24-99
Hawkeye	2165 Idaho Drive		Pella IA	50219	Arlen	Eggerling	11-28-97
Henkel Se	107 Cedar Grove Rd.		Mendota IL	61342	Tom	Meinhardt	11-28-97
Hermann's	1590 190th Avenue		Mancheste IA	52057	Brock	Hermann	11-28-97
Higginboth	220 W Washington		Paris IL	61944	Nels	Kasey	11-21-97
Hill Seed	C3069 330t	PO Box 12	Ellsworth IA	50075	Mark	Hill	11-16-98
Hiser Seed	2311 Mile Tree Road		Clarksburg OH	43115	Thomas	Ramsey	12-01-97
Hoblit See	2189 1900th Avenue		Atlanta IL	61723	James C.	McKown	11-24-97
Horizon G	36161 Stat	PO Box 31	Mason Cit IL	62664	Chris	Daum	4-7-99
Hubner Ind	10280 W State Road		West Leba IN	47991	Bob	Hubner	11-28-97
Hughes H	206 N. Hughes Road		Woodstoc IL	60098-961	Robert	Hughes	11-26-97
Hy-Vigor S	4970 Redwood Avenu		Paullina IA	51046	Scott	Schreiner	08-28-98
IMC AgriB	Royster Cl 409 Main		Tarboro NC	27886	Gary	Floyd	11-26-97
J-T Seed	N2976 Highway M		White Lak WI	54491	Tom	Gallenberg	11-24-97
Jacobsen	129 9th Str	Box 379	Lake View IA	51450	D. Larry	Nelson	11-24-97
Jeder Inc.	4759 TR 3	PO Box 20	Berlin OH	44610	Tom	Yoder	
Johnson S	72700 185th Street		Dassel MN	55325	Charles	Johnson	12-01-97
Jung Seed	341 South High Street		Randolph WI	53956	Peter	Jung	11-18-97
Kaltenberg	5506 Highway 19, Box		Waunakee WI	53597	Lee	Jennings	12-01-97
Kaystar Se	702 Third	PO Box 94	Huron SD	57350	Ken	King	11-25-97
Knisely Hy	230 21st Street SE		New Phila OH	44663	W. E.	Knisely	11-25-97
Kramer Se	1114 So Monroe		Hugoton KS	67951	James	Kramer	not dated-
Kruger Se	Highway 20 East		Dike IA	50624	Tom	Lizer	11-25-97
Kussmaul	9020 Highway 18		Mt. Hope WI	53816	Paul	Klinkhamm	11-21-97
Land O'La	1275 Red Fox Road		Arden Hills MN	55112	Dave	Seehusen	09-21-98
Legend Se	East High	PO Box 24	DeSmet SD	57231	Glen	Davis	11-26-97

Lemke Se	10220 N Granville Ro	Mequon	WI	53092	Ralph	Lemke	11-20-97
Lewis Hyb	W Maple S PO Box 38	Ursa	IL	62376	Scott	Lewis	11-28-97
Limagrain	4001 N. War Memoria	Peoria	IL	61614	Edward	Germain	
Linco See	631 Pacific PO Box B	Dassel	MN	55325	Myron	Asplin	11-28-97
Mallard Se	311 W. Br PO Box 63	Plainview	MN	55964	Raymond	Brueske	11-26-97
Mark Seed	823 W 2nd Box 67	Perry	IA	50220	Mark	Terpstra	11-20-97
Martin Bro	5123 So. 400 E.	Walton	IN	46994	John	Martin	11-21-97
McKillip Se	565 N 500W	Wabash	IN	46992	Mike	McKillip	11-04-97
Merschma	103 Avenu PO Box 67	West Point	IA	52656	Joe	Merschma	11-24-97
Mid-Atlanti	2083 Springwood Roa	York	PA	17403	James J.	Vizzard	11-28-97
Middlekoo	1637-155th Street	Packwood	IA	52580	Jack	Middlekoo	11-06-97
Midland G	1906 Kingman Road	Ottawa	KS	66067	Ron	Sylvester	11-22-97
Minnesota	3080 Eaga PO Box 64	St. Paul	MN	55164	Donald	Houghton	12-10-97
Munson H	1262 Knox Road, 100	Galesburg	IL	61401	John	Hennenfen	11-26-97
NC+ Hybri	3820 N 56t PO Box 44	Lincoln	NE	68504	Lonnie	Hester	11-24-97
NeCo See	28700 S S PO Box 37	Garden Cit	MO	64747	W.J.	Cook	11-24-97
North-Gro	613 N. Randolph Stre	Cuba City	WI	53807	Lou	Schweiger	11-25-97
NorthStar	11355 Hig Box 40	Wanaming	MN	55983	Dan	Hogstad	11-28-97
NU-AG Se	110 Fairla PO Box 34	Tuscola	IL	61953	Rudy	Bergner	11-28-97
O'Brien Fa	552 Glenway Road	Brooklyn	WI	53521	Dan	O'Brien	11-29-97
Osborn Se	14993 State Road 17	Culver	IN	46511-964	Bob	Osborn	11-25-97
Otilie Far	1462 Sanford Avenue	Marshallto	IA	50158	Steve	Otilie	11-25-97
Parke See	1/2 Mile N PO Box 22	Marshall	IN	47859	Marvin	Rode	11-24-97
Patriot See	208 S. Wo PO Box 97	Bowen	IL	62316	Woody	Cheesman	11-25-97
Pfister Hyb	187 N. Fayette	El Paso	IL	61738	Jim	Crowley	11-05-97
Pickering	3542 US 4 Box 126	Lewisville	IN	47352	Mark	Pickering	11-25-97
Pierson Se	1816 Highway 163	Oskaloosa	IA	52577	Scott	Pierson	12-01-97
Porter Hyb	1683 S. R. 134 North	Wilmington	OH	45177	James	Porter	11-26-97
Powell Se	6349 St Rt 701	Ada	OH	45810	Donald	Powell	11-25-97
Prairie See	208 S. Ra Box 395	Wolcott	IN	47995	Robert	Cline	11-24-97
Precision	911 Barcla PO Box 44	Galloway	OH	43119	Todd	Buel	01-29-98
Premium S	1028 130th Street	Berwick	IL	61417	Dennis	Ruff	12-01-97
Prime Far	224 N. Ma PO Box 54	Dana	IN	47847	James	Parks	6-30-98
Pro-Seed I	236 Sugar PO 55	Blissfield	MI	49228	Ronald	Jacob	11-6-97
Producers	3/4 Mile W PO Box C	Battle Cre	NE	68715	Bob	Kleinschmi	11-19-97
Proseed, I	705 East Brewster	Harvey	ND	58341	Keith	Peltier	01-04-99
PSA Gene	661-510th Street	Alta	IA	51002	Mitch	Quirin	11-28-97
Quality Plu	711 North I	Monmouth	IL	61462	Dave	Linden	11-20-97
Ramy Inter	1329 N. Riverfront Dri	Mankato	MN	56001	Michael	Ramy	11-28-97
REA Hybri	13312 392 Box 908	Aberdeen	SD	57402	Wendell	Rea	11-28-97
Renze Hyb	27410 Kittyhawk Aven	Carroll	IA	51401	Tim	Renze	11-24-97
Roeschley	8222 E 1500 North Ro	Graymont	IL	61743	Mark	Roeschley	11-24-97
Roth Seed	354 State Street	Phillipsbur	KS	67661	Neal	Roth	10-01-98
Ruff's See	3870 Ruff Road S.W.	Amanda	OH	43102	Allan	Reid	11-27-97
Rupp See	17919 Co Rd B	Wauseon	OH	43567	John	King	
S.B.D. Inc.	1701 North Broadway	Mt. Pleasa	IA	52641	Scott	McAllister	11-23-97
Sand Seed	4765 High PO Box 64	Marcus	IA	51035	Charles	Sand	11-29-97
Schlessma	11513 US Rt 250 N	Milan	OH	44846-975	Daryl	Deering	11-21-97
Seed Cons	9768 Mille PO Box 96	Jeffersonvi	OH	43128	Chris	Jeffries	10-29-97

Seeds 200	115 North 3rd Street	Breckenrid	MN	56520	Steve	Kent	09-21-98	
Select See	277 West Box 54	Camden	IN	46917	Arthur	Eggerling	11-18-97	
Settlemyre	10288 Wil	PO Box 15	Clarksville	OH	45113	William	Settlemyre	11-24-97
Shepherd	Rt 1 535 Middle Road	So Beloit	IL	61080	Gene	Shepherd	not dated	
Sieben Hy	633 North College Av	Geneseo	IL	61254	Phil	Jordan	11-24-97	
Silver Lan	417 W. Division Street	Remington	IN	47977	Steve	Kinsell	11-26-97	
Southern	6606 West PO Box 26	Richmond	VA	23230	Danny	Dillon	not signed	
Spangler S	803 W. Racine Street	Jefferson	WI	53549	John	Spangler	11-24-97	
Specialty	1211 Cum PO Box 27	West Lafa	IN	47906	William	Funk	11-14-97	
Stauffer S	101 Grant PO Box 68	Aurora	NE	68818	Anthony G	Laos	11-18-97	
Steyer Far	6154 N CR 33	Tiffin	OH	44883	Bernard	Steyer	11-29-97	
Stine Seed	2225 Laredo Trail	Adel	IA	50002-824	Harry	Stine	5/12/99rrs,	
Stone See	5965 State Road 97	Pleasant P	IL	62677	A.R.	Stone	11-26-97	
Stoner Se	14020 298 Avenue	South Engl	IA	52335-854	Myron	Stoner	11-26-97	
Super Cro	353 Main Box 309	Manilla	IA	51454	Nyle	Gruhn	11-26-97	
Taylor See	RR 2, Box 2467	High White Clou	KS	66094	Brad	Taylor		
Tennessee	200 Waldron Road	LaVergne	TN	37086	Bill	Draper	12-1-97	
Terning Se	15365 60th St. SW	Cokato	MN	55321	Dennis	Terning	11-28-97	
Terra Inter	600 Fourth PO Box 60	Sioux City	IA	51102-600	Brent	Low	12-05-97	
Terral See	604 Blount PO Box 82	Lake Provi	LA	71254-082	Thomas	Terral	11-17-97	
Texas Triu	Highway 6 PO Box 10	Ralls	TX	79357	Noble	Koepp	11-28-97	
The Ander	480 W. Dussel Drive	Maumee	OH	43537	Charlie	Carr		
Top Farm	Box 850 17177 60t	Cokato	MN	55321	James	Haapala	11-25-97	
Trelay Far	11623 Hwy 80N	Livingston	WI	53554	Brad	Biddick	11-24-97	
Tri-State C	4415 66th St., Ste 111	Lubbock	TX	79414	Jim	Becton		
Trisler See	3274 E 800 N Road	Fairmount	IL	61841	T.J.	Hale	11-26-97	
United See	29152 Hagy Road	Defiance	OH	43512	Robert	Zachrich	12-15-97	
United Sup	30473 260 PO Box 53	Eldora	IA	50627-053	Harold	Davis	3-12-99	
Uthoff Hyb	3808 Hoosier Creek R	Cedar Rap	IA	52404	Vince	Uthoff	11-26-97	
Wabash V	8006 W 200 S	West Point	IN	47992	David	Maitlen	12-15-97	
Warner Se	11350 Panther Creek	Bradford	OH	45308	David	Warner	11-14-97	
Wellman S	23778 Delphos Jennin	Delphos	OH	45833	Jim	Wellman	11-26-97	
Wensink F	4704 Wood Road	Monroevill	OH	44847	Robert	Wensink	11-11-97	
Whisnand	1220 E St Rt 133	Arcola	IL	61910	Myron	Shonkwiler	11-28-97	
Wilson Se	1408 High P.O. Box 3	Harlan	IA	51537	John	Crabtree	08-18-98	
Wm. F. Re	R-2 6800 Wilburn Roa	Sun Prairie	WI	53590	Jeffrey	Renk	12-04-97	
Wyckoff H	594 E 400 N	Valparaiso	IN	46383	John	Wyckoff	11-28-97	
Wyffels Hy	13344 U.S. Highway 6	Geneseo	IL	61254	Glenn	Skinner	11-11-97	

[illegible]

G - 5-17-99

o amendment

[illegible]

